
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

**МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ ПРИ РОСТЕ ПЕРЕВИВАЕМОЙ
ГЕПАТОМЫ 22А: РОЛЬ ЦЕРУЛОПЛАЗМИНА**

© 2025 г. Е. А. Зеленский¹, К. В. Рутто², А. С. Трулев¹, Н. П. Горбунов³,
А. В. Соколов⁴, Е. П. Киселева^{1,*}

¹Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

²Санкт-Петербургский государственный технологический институт
(технический университет), Санкт-Петербург, Россия

³Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии
и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия

⁴Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева Министерства
здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

*E-mail: ekissele@yandex.ru

Поступила в редакцию 29.04.2025 г.

После доработки 29.05.2025 г.

Принята к публикации 16.06.2025 г.

Церулоплазмин (Ср) играет ключевую роль в обмене двух жизненно важных микроэлементов – железа и меди, метаболические пути которых тесно связаны между собой, а также с обменом цинка. Опухолевый рост часто сопровождается повышением концентрации Ср в крови, однако его роль в опухолевой прогрессии не вполне ясна. Цель исследования – сопоставление изменений концентрации Ср в сыворотке крови с концентрациями железа и цинка, а также провоспалительных цитокинов и липидов в динамике опухолевого роста. Кроме того, изучали, как влияет на содержание Ср сульфат цинка, принимаемый с питьевой водой. Работу проводили на мышах СЗНА, которым подкожно инокулировали клетки гепатомы 22а. Подъем Ср начинался с 14-х суток синхронно с появлением центральных некрозов и повышением уровня триглицеридов в циркуляции. Повышение концентрации IL-6 в крови начиналось на 7-е сутки и могло служить триггером для развития острофазной реакции, выражающейся в повышении синтеза Ср, развитии гипоферремии, гипоцинкемии и гипертриглицеридемии. Снижение содержания негемового железа в крови и печени развивалось позже, чем подъем Ср, это указывает на то, что дефицит железа не мог быть причиной повышения концентрации Ср на 14-е сутки, однако мог способствовать его поддержанию на поздних сроках роста гепатомы. Прием сульфата цинка нормализовал содержание железа и частично цинка в крови у животных с опухолями на 21-е сутки, но не влиял на концентрацию Ср. Обсуждается возможная протуморогенная роль Ср, которая связана не столько с его участием в обмене железа, сколько со способностью транспортировать медь в ткани. Мы предполагаем, что Ср является важным патогенетическим фактором, участвующим в обеспечении опухолей необходимыми липидными метаболитами, поскольку Ср совместно с IL-6 может поддерживать процесс липолиза в жировой ткани, доставляя туда ионы меди.

Ключевые слова: церулоплазмин, гепатома 22а, IL-6, гипоферремия, триглицериды, опухолевые некрозы, сульфат цинка

ВВЕДЕНИЕ

Церулоплазмин (Ср) является белком, сопровождающим опухолевый рост, и может использоваться для диагностики и прогноза при разных видах новообразований у человека, хотя его роль в опухолевой прогрессии не вполне ясна [1, 2]. Повышение его концентрации в крови можно рассматривать по-разному: как реакцию белка острой фазы, как ответ на гипоксию и окислительный стресс, а возможно, и как следствие изменения содержания железа и меди в организме.

Некоторые специалисты считают, что основной функцией растворимой формы Ср, находящейся в плазме крови, является его антиоксидативное действие, связанное со способностью удалять образующиеся при воспалении свободные радикалы кислорода [3]. Того же мнения придерживаются ученые и в отношении роли Ср при опухолевом росте, поскольку этот процесс также сопровождается развитием системного окислительного стресса [4].

Однако не менее важным является участие Ср в обмене меди и железа. Ср является одним из основных белков – переносчиков меди и доставляет этот важный микроэлемент не только нормальным, но и опухолевым тканям, способствуя опухолевой прогрессии [5]. Ср также обладает феррооксидазной активностью, переводя железо из Fe(II) в Fe(III), что необходимо для связывания с трансферрином, основным железотранспортным белком, и ферритином, выполняющим роль основного внутриклеточного депо [3]. Ср активно участвует в мобилизации железа из систем внутриклеточного хранения и играет важную роль в поддержании баланса железа в организме. Известно, что пищевой дефицит железа у нормальных животных повышает синтез Ср через активацию HIF-1 α сигнального пути [6].

Обмен железа и меди в организме тесно взаимосвязан с еще одним микроэлементом – цинком. Эти металлы могут проявлять конкурентные взаимоотношения на уровне всасывания, транспорта и встраивания в различные ферменты и транскрипционные факторы [7, 8]. Содержание животных на диете с повышенным содержанием цинка [9], так же как и избыточное употребление цинка пациентами [10], вызывает резкое снижение активности Ср в крови, которое является следствием развития дефицита меди из-за подавления ее всасывания в кишечнике. В противоположном случае дефицит цинка в организме может также оказывать значимое влияние на содержание меди и активность Ср у животных [11]. О взаимосвязи цинка и Ср свидетельствуют данные о том, что цинк может замещать ионы меди в лабильных сайтах связывания молекулы Ср [12]. Присутствие ионов цинка необходимо для осуществления одной из важнейших функций этого белка – переноса Fe(II), окисляемого Ср, на трансферрин [13].

Данные литературы указывают, что между тремя микроэлементами (Fe, Zn, Cu) и Ср существуют довольно сложные непрямолинейные взаимоотношения, и изменения в содержании железа, меди или цинка в организме могут оказывать существенное влияние если не на синтез Ср, то на его ферментативную активность.

Ср является белком острой фазы, который синтезируется в печени под влиянием провоспалительных цитокинов TNF- α , IL-1 β и IL-6 [3, 14]. Известно, что в ходе острой воспалительной реакции эти цитокины вызывают развитие гипоферремии [15] и гипоцинкемии [16, 17], которые могут оказывать влияние на функционирование Ср.

Частью острофазного ответа является также гиперлипидемия, связанная со способностью провоспалительных цитокинов ингибировать липопротеинлипазу жировой ткани, подавлять липогенез и способствовать липолизу [18], а также увеличивать секрецию триглицеридов в печени [19, 20]. Имеются данные о том, что Ср связан с регуляцией метаболических процессов в жировой ткани. Он синтезируется не только в печени, но и в жировой ткани, где контролирует синтез других адипокинов и оказывает противовоспалительное действие [21]. Показано, что при метаболическом синдроме

повышенная концентрация Ср в образцах сыворотки крови ассоциирована с уровнем липидов и особенно триглицеридов [22].

Реакция острой фазы является ответом организма на повреждение тканей и развивается обычно в течение первых 24–48 ч [23]. При опухолевом росте острое состояние может переходить в хроническое воспаление вследствие циклического течения неопластического процесса, при котором гипоксия и некроз сменяются новыми фазами пролиферации и ангиогенеза [24]. В результате рост многих опухолей сопровождается развитием системной воспалительной реакции с повышением в крови концентрации провоспалительных цитокинов и белков острой фазы [25], гиперлипидемией [26, 27], а также развитием дефицита железа и цинка [28, 29].

Целью настоящего исследования послужило сопоставление изменений концентрации Ср, активного по отношению к пара-фенилендиамину, в сыворотке крови животных с рядом показателей, характеризующих метаболические нарушения и воспалительную реакцию, в динамике роста перевиваемой опухоли, а именно с концентрацией в крови железа и цинка, провоспалительных цитокинов (TNF- α и IL-6), а также холестерина и триглицеридов. Кроме того, содержание Ср было сопоставлено с концентрациями железа и цинка в сыворотке крови в условиях дополнительного приема цинка с питьевой водой.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Животные. Работу проводили на мышах-самцах СЗНА массой тела 16–18 г, полученных из питомника лабораторных животных “Рапполово” Национального исследовательского центра “Курчатовский институт” (Санкт-Петербург, РФ). Животные находились на стандартной диете и получали сухой комбикорм ПК-120 (“Лабораткорм”, Москва, РФ), содержащий 22.5 мг цинка и 18 мг железа на кг корма. Мыши имели свободный доступ к еде и питьевой воде *ad libitum*. Световой режим день/ночь был установлен по 12 ч, температура в помещении – 22 °С.

Клеточные культуры. Культура клеток гепатомы 22а (МН-22а/МГ-22а) была получена из коллекции клеточных культур Института цитологии РАН. Клетки культивировали в среде DMEM (“Биолот”, РФ) с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки (HyClone, Великобритания), 0.1 мг/мл гентамицина (“Биолот”, Россия) и 0.6 мг/мл глутамина (“Биолот”, РФ) при 5% CO₂ и 37 °С.

Опухолевая модель. Для получения солидных опухолей животным подкожно инокулировали в область спины 2×10^5 живых клеток гепатомы 22а в 0.2 мл забуференного физиологического раствора (PBS, “Биолот”, РФ). Контрольные животные получали инъекцию только PBS. Для изучения действия цинка животные с опухолями получали *ad libitum* питьевую воду с добавлением сульфата цинка (Sigma, США) в концентрации 22 мкг/мл с первого дня после инокуляции клеток гепатомы 22а в течение всего периода эксперимента.

На 3-и, 7-е, 14-е и 35-е сутки опухолевого роста анестезированных животных обескровливали и в образцах сыворотки крови определяли содержание ряда факторов для каждой мыши индивидуально. Опухолевые узлы измеряли циркулем в двух взаимно перпендикулярных направлениях и вычисляли объем опухоли по формуле $v = 0.4ab^2$, где a и b – наибольший и наименьший размеры опухоли соответственно. Кроме того, извлекали опухоль для гистологического анализа и печень для определения содержания железа.

Для гистологического исследования опухолевые узлы фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального забуференного формалина и заключали в парафин. Срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилин-эозином и азур-II-эозином. Подсчет площади, занимаемой на срезе некротизированной и интактной тканью, проводили с помощью сетки Вейбеля на 50 точек при увеличении $\times 200$ в 10 полях зрения с вычислением

средней арифметической на одно поле зрения [30]. Поскольку соотношение площадей на срезе прямо пропорционально соотношению объемов, на рисунке указано соотношение объемов.

Определение содержания негемового железа в сыворотке крови и печени. Концентрацию железа определяли колориметрическим методом [31] с использованием хромогенного агента феррозина (Sigma-Aldrich, США). Гомогенаты печени приготавливали в деионизированной воде 1 : 10 (масса/объем) и смешивали с равным объемом раствора, преципитирующего белки, состоящего из 1 М HCl (“Реахим”, РФ) и 10%-ной трихлоруксусной кислоты (“Реахим”, РФ). Пробы нагревали при 95 °С в течение 1 ч, затем охлаждали до комнатной температуры и центрифугировали при 8200 g в течение 10 мин. После этого 30 мкл супернатанта смешивали с 30 мкл хромогенного субстрата, состоящего из 0.508 мМ феррозина, 1.5 М ацетата натрия (Amresco, США) и 1.5%-ной тиогликолевой кислоты (Sigma-Aldrich, США); в контрольные пробы феррозин не добавляли. Через 30 мин оптическую плотность раствора измеряли с помощью микропланшетного спектрофотометра (ClarioStar, BMG Labtech, Германия) при длине волны 562 нм. Построение калибровочных кривых проводили в день эксперимента с использованием в качестве стандарта 0–20 мкг/мл железа в виде раствора $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich, США) в 0.4 М натрий-ацетатном буфере, pH 5.5.

Содержание общего цинка в образцах сыворотки крови определяли с помощью метода атомно-абсорбционной спектроскопии. Образцы растворяли в двух объемах азотной кислоты (“Реахим”, РФ) и проводили измерение по отношению к стандартным растворам цинка (Центр стандартных образцов и высокочистых веществ, Санкт-Петербург, Россия) с помощью спектрометра ZEE nit 650P (Analytik Jena, Германия).

Содержание липидов в сыворотке крови – общего холестерина и триглицеридов проводили на аутоанализаторе Keysys (Boehringer Mannheim).

Концентрацию цитокинов в сыворотке крови определяли с помощью иммуноферментного метода с использованием коммерческих наборов для определения TNF- α и IL-6 мыши (Titerzyme, Advanced Magnetics; R&D Systems, Великобритания).

Концентрацию Ср в сыворотке крови определяли путем измерения его оксидазной активности с пара-фенилендиамином в микропланшетах [32]. Десять микролитров образца сыворотки или калибровочного Ср (0.005–1.4 мг/мл) вносили в лунки 96-луночного планшета, а затем добавляли 0.24 мл свежеприготовленного 0.2%-ного раствора дигидрохлорида пара-фенилендиамина в 0.4 М натрий-ацетатном буфере (pH 5.5). Измерение при длине волны A_{530} проводилось немедленно с помощью микропланшетного ридера ClarioStar (BMG Labtech, Ортенберг, Германия). Через 30 мин инкубации при 37 °С снова измеряли при длине волны 530 нм. Расчет содержания Ср в тестируемых образцах сыворотки крови проводили по калибровочному графику с использованием очищенного Ср, полученного из сыворотки крови мыши [33].

Статистическую обработку результатов проводили в программе Statistica 13.0 с использованием *t*-критерия Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0.05$. Данные представлены в виде среднего значения $\pm$ ошибка среднего ($M \pm SEM$).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Морфологическая характеристика опухолевого роста. Гепатома 22а – слабоиммунотогенная нематастазирующая опухоль с умеренной степенью дифференцировки [34]. На 7-е сутки после подкожной инокуляции появлялось пальпируемое через кожу образование диаметром 2–3 мм. На 14-е сутки диаметр опухоли составлял приблизительно 10 мм. С этого времени наблюдался период быстрого роста (14–21-е сутки), к концу которого опухоль достигала в размере 20 мм, после чего наступал период замедления ее роста (28–35-е сутки).

При гистологическом исследовании ткань гепатомы 22а на 7-е сутки характеризовалась максимально выраженной лимфоидной инфильтрацией по периферии опухолевого узла и началом неоваскуляризации. На 14-е сутки ткань гепатомы окончательно формировалась – опухоль состояла из более однородных, чем на предыдущих сроках исследования, плотно расположенных клеток, имеющих сходство с печеночными. В центральных отделах опухоли впервые на этом сроке появлялись небольшие множественные рассеянные очаги некроза, часто располагающиеся вблизи сосудов. На этом сроке исследования площадь некрозов на срезах составляла 3% (рис. 1а).

На 21-е сутки площадь, занимаемая некрозами, существенно увеличивалась и занимала уже около 10% площади среза. Встречались мелкие и более крупные сливные очаги некроза, часто с кровоизлияниями. Более старые очаги некроза были гомогенны, в сосудах отмечались тромбы, встречались ксантомные клетки. На 28-е и 35-е сутки площадь некрозов прогрессивно увеличивалась и составляла соответственно 44 и 68% от площади среза. Выявлялись все фазы некроза, однако преобладали крупные гомогенные очаги мертвой ткани с фестончатыми краями. Среди участков некроза вокруг сосудов можно было видеть небольшие островки сохранившейся опухолевой ткани. Несмотря на распространенность некроза, в сохранившейся паренхиме отмечалось значительное количество митозов. Лимфоидная инфильтрация в окружающей ткани не выявлялась, но сохранялось значительное количество тучных клеток на периферии опухолевого узла.

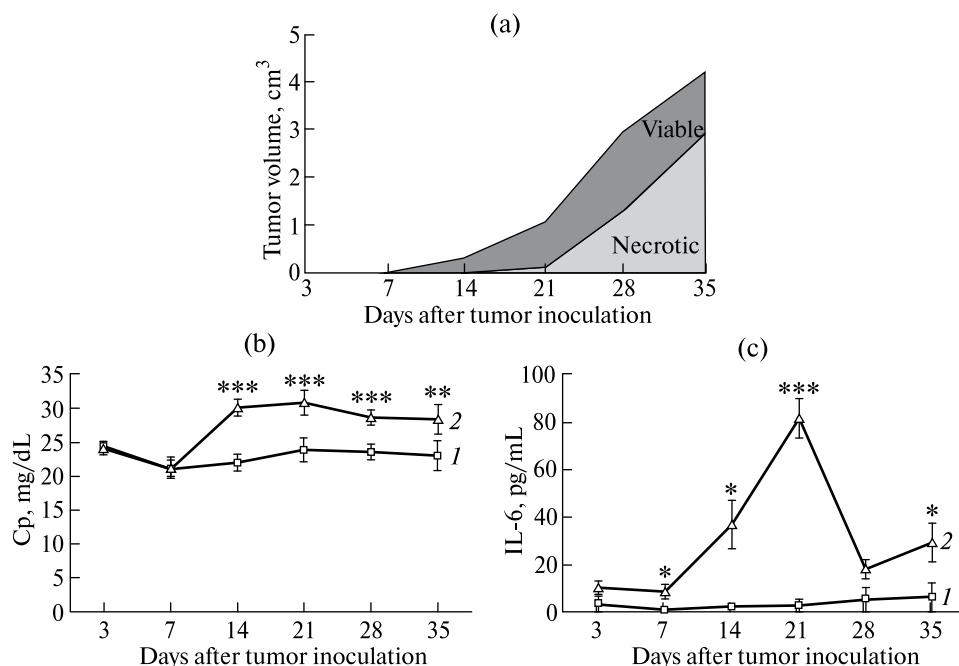


Рис. 1. Динамика развития центральных некрозов в опухоли (а) и влияние опухолевого роста на концентрацию церулоплазмينا (б) и IL-6 (в) в сыворотке крови. По оси ординат: (а) – объем опухоли, cm^3 ; кривыми обозначены площади, занимаемые жизнеспособной (светло-серый) и некротизированной (темно-серый) тканью опухоли на гистологических срезах в процентах от общего объема (в 10 полях зрения с вычислением средней для каждой мыши, $n = 4$); (б) – концентрация церулоплазмينا в сыворотке крови, mg/dL , $n = 6-15$; (в) – концентрация IL-6 в сыворотке крови, pg/mL , $n = 5-11$. По оси абсцисс – дни после инокуляции опухоли, сутки. Обозначения: 1 – контрольные животные, 2 – мыши с гепатомой 22а. Здесь и далее данные представлены в виде средней величины и ошибки среднего ($M \pm SEM$), звездочками обозначены достоверные различия между опухолевой (2) и контрольной (1) группами животных: * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$, *** – $p < 0.001$.

Влияние роста гепатомы 22a на концентрацию Ср и цитокинов в сыворотке крови. Концентрация Ср в образцах сыворотки крови мышей с гепатомой 22a была повышена, начиная с 14-х суток после инокуляции клеток опухоли (рис. 1b), что совпадало во времени с появлением некрозов в опухоли (рис. 1a).

Поскольку известно, что опухолевые клетки сами могут синтезировать Ср [1, 2], исследовали его присутствие в 48-часовых надосадках культур клеток гепатомы 22a. Результаты анализа показали, что клетки опухоли в культуре Ср не продуцируют. Следовательно, подъем уровня этого фактора в крови обусловлен его синтезом нормальными клетками организма.

При исследовании содержания провоспалительных цитокинов в сыворотке крови мышей с гепатомой 22a оказалось, что TNF- α на всех сроках исследования с 3-х по 35-е сутки не выявлялся. Концентрация IL-6 повышалась, начиная с 7-х суток, достигая пика на 21-е сутки, и затем снижалась на более поздних сроках исследования (рис. 1c). Если сравнивать динамику изменений IL-6 и Ср, то они во времени не совпадали. Так, содержание IL-6 начинало повышаться на неделю раньше, чем Ср, а на 28–35-е сутки концентрация цитокина значительно снижалась, в то время как содержание церулоплазмينا оставалось повышенным приблизительно на том же уровне.

Поскольку известно, что опухолевые клетки могут сами синтезировать провоспалительные цитокины, в частности IL-6 [35], исследовали их присутствие в 48-часовых надосадках культур клеток гепатомы 22a. Результаты анализа показали, что клетки опухоли в культуре не продуцируют ни IL-6, ни TNF- α .

Влияние роста гепатомы 22a на содержание липидов в сыворотке крови. Поскольку известно, что IL-6 повышает синтез жирных кислот и холестерина в печени, а также концентрацию триглицеридов в сыворотке крови животных с перевиваемой фибросаркомой [36], нами была исследована динамика содержания триглицеридов и холестерина в сыворотке крови мышей с гепатомой 22a. Результаты представлены на рис. 2a, b. Уровень триглицеридов повышался, начиная с 14-х суток, а холестерина – с 21-х суток после инокуляции опухолевых клеток. Динамика изменений содержания триглицеридов в крови была аналогична изменениям концентрации Ср.

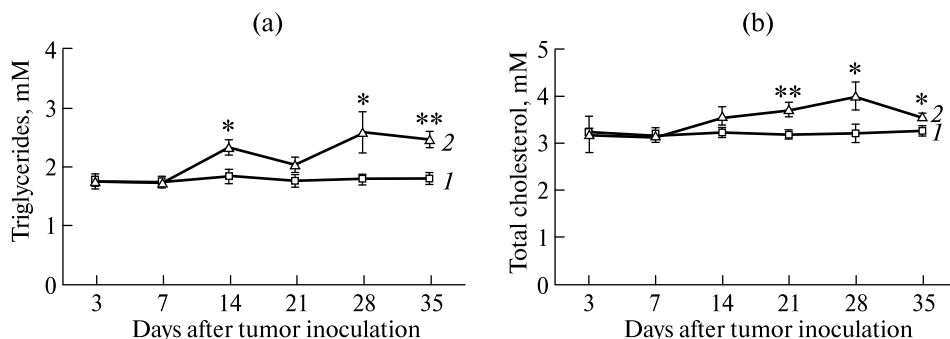


Рис. 2. Влияние опухолевого роста на концентрацию липидов в сыворотке крови. По оси ординат: (a) – содержание триглицеридов, mM; (b) – содержание общего холестерина, mM, 1 – у контрольных животных, 2 – у мышей с гепатомой 22a. В каждой группе 8–10 мышей. По оси абсцисс – время после инокуляции гепатомы 22a, сутки.

Влияние роста гепатомы 22a на содержание микроэлементов. Снижение концентрации негемового железа в сыворотке крови мышей-опухоленосителей наблюдали, начиная с 21-х суток после инокуляции клеток опухоли (рис. 3a), т.е. на неделю позже, чем регистрировали повышение концентрации Ср.

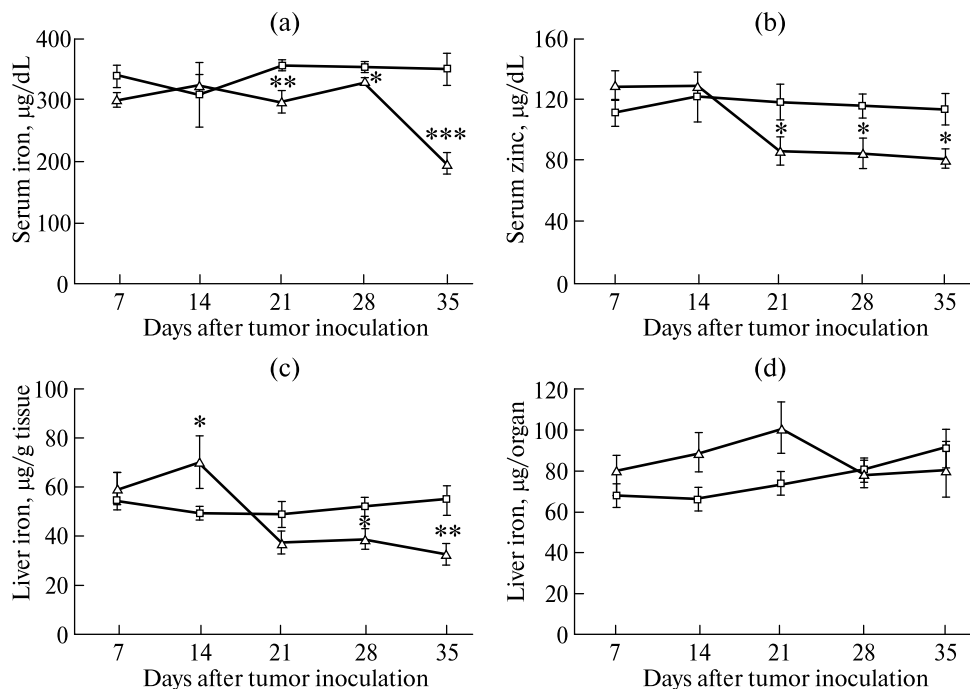


Рис. 3. Влияние опухолевого роста на содержание цинка и негемового железа в сыворотке крови, а также железа в печени. По оси ординат: концентрация железа (а) и цинка (б) в сыворотке крови, $\mu\text{g/dL}$; (с) – содержание железа в печени, $\mu\text{g/g}$ сырой ткани; (д) – содержание железа в печени в расчете на орган, $\mu\text{g/organ}$, 1 – у контрольных мышей и 2 – у мышей с гепатомой 22а. В каждой группе 15–20 мышей. По оси абсцисс – время после инокуляции гепатомы 22а, сутки.

Поскольку известно, что Ср способствует выходу железа из депо [3], а основным депо является печень, была изучена динамика изменений содержания железа в печени. Было показано, что при расчете содержания негемового железа на единицу массы печени на 14-е сутки наблюдали незначительное повышение, а начиная с 21-х суток – снижение этого показателя (рис. 3с). При расчете содержания негемового железа на весь орган содержание железа в печени существенно не изменялось по сравнению с этими же показателями у контрольных мышей (рис. 3д).

Таким образом, начало повышения концентрации Ср в сыворотке крови мышей с гепатомой 22а не совпадало во времени с изменениями содержания железа в сыворотке крови и печени.

Концентрация цинка в сыворотке крови мышей с гепатомой 22а, так же как и концентрация железа, снижалась, начиная с 21-х суток (рис. 3б).

Влияние дополнительного приема сульфата цинка на концентрацию металлов и Ср в сыворотке крови мышей с гепатомой 22а. Для того чтобы ответить на вопрос, могут ли изменения концентрации цинка и железа в крови повлиять на концентрацию Ср, были поставлены модельные эксперименты, в которых в качестве воздействия на содержание микроэлементов был использован дополнительный прием соли цинка. В литературе описано, что таким способом в сыворотке крови можно существенно изменить уровень содержания цинка, железа [37], меди [38], а также активности Ср [9, 38].

Как показано на рис. 4а, концентрация эндогенного цинка у животных, получавших сульфат цинка, повышалась по сравнению с мышами-опухоленосителями, цинка не получавшими, но не достигала контрольного уровня (рис. 4а). В то же время сниженная

концентрация негемового железа в сыворотке крови мышей с гепатомой 22а полностью восстанавливалась до контрольного уровня (рис. 4b). При этом дополнительный прием цинка в концентрации 22 мкг/мл с питьевой водой не влиял на содержание Ср, которое оставалось повышенным (рис. 4с).

Концентрация сульфата цинка, добавляемого к питьевой воде (22 мкг/мл), была подобрана нами ранее [39]. Она соответствует нормальному содержанию цинка в корме и принятым международным стандартам [40]. Тем самым животные получали дозу цинка, в два раза большую, чем физиологическая (с кормом и дополнительно с питьевой водой). При увеличении концентрации до 66 мкг/мл (в 3 раза больше, чем в контроле) также не было получено существенного влияния принимаемого цинка на активность Ср, которая стала даже выше по сравнению с показателями у мышей с гепатомой, принимавших сульфат цинка в концентрации 22 мкг/мл (рис. 4с).

Таким образом, повышенный уровень концентрации Ср в сыворотке крови мышей с гепатомой 22а не был связан с концентрациями железа и цинка в крови как у мышей, получавших сульфат цинка в диапазоне 11–66 мкг/мл с питьевой водой, так и у животных с опухолями без приема цинка.

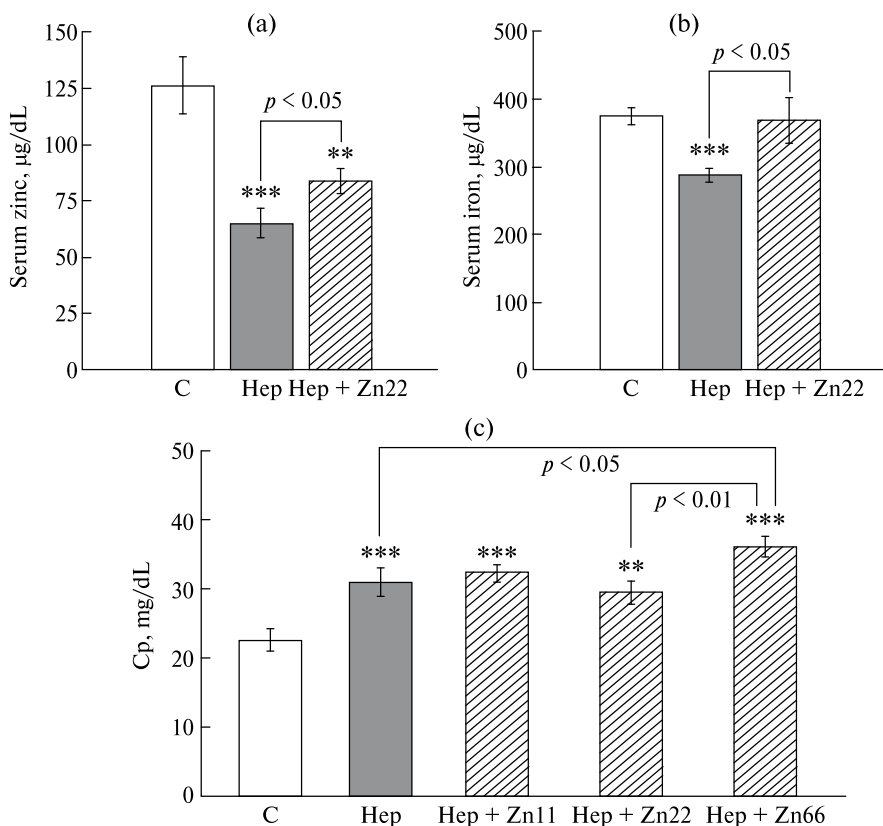


Рис. 4. Влияние опухолевого роста и приема сульфата цинка в течение 21-х суток на концентрацию эндогенного цинка, негемового железа и церулоплазмينا в сыворотке крови. По оси ординат: концентрация (а) – цинка, µg/dL, (б) – железа, µg/dL и (с) – церулоплазмينا, mg/dL, в сыворотке крови животных. По оси абсцисс – группы животных. Обозначения: С (Control) – контрольные животные; Hep (Hepatoma) – мыши с гепатомой 22а; Hep+Zn11, Hep+Zn22 и Hep+Zn66 – мыши с гепатомой 22а, получавшие сульфат цинка в концентрациях 11, 22 или 66 мкг/мл с питьевой водой соответственно. В каждой группе 15–20 мышей. Звездочками обозначены достоверные различия каждой из опытных групп по отношению к группе контрольных животных (С).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Ср, как и другой белок острой фазы, С-реактивный белок, принадлежит к числу патологических маркеров прогрессии опухолевого роста [41, 42]. Концентрация Ср в крови повышена при росте многих опухолей [2, 4], и в ряде случаев эти показатели коррелируют с плохим прогнозом и неэффективным ответом на лучевую [43] и химиотерапию [42].

Хотя это не характерно для гепатомы 22а, многие опухолевые клетки могут сами синтезировать Ср, что является нежелательным фактором. Так, показано, что у больных раком почки и легкого выраженность экспрессии Ср в опухолевой ткани коррелирует с неблагоприятным прогнозом, смертельным исходом и раковой прогрессией [1, 2]. Установлена связь между высокой экспрессией Ср в опухолях легкого и активацией неоангиогенеза [44], а также выявлена способность Ср стимулировать инвазию клеток рака почки *in vitro* [1].

Приведенные данные литературы позволили нам предположить, что Ср является не просто индикатором воспаления – белком, сопровождающим опухолевый рост, а патогенетическим фактором, участвующим в метаболической перестройке организма, способствующей прогрессированию заболевания. В связи с этим мы сопоставили изменения концентрации Ср в сыворотке крови с рядом других системных метаболических показателей в динамике роста перевиваемой опухоли гепатомы 22а.

Известно, что концентрация Ср в сыворотке крови значительно возрастает не только при опухолевом росте, но и при любых инфекционных и неинфекционных воспалительных процессах, сопровождающихся деструктивными и некротическими изменениями в тканях [4]. Поскольку для роста солидных опухолей характерно развитие центральных некрозов, нами были изучены время их появления и дальнейшее развитие при помощи гистологического исследования срезов гепатомы 22а. Оказалось, что появление некрозов совпадало во времени с повышением концентрации активного Ср, которое отражало их дальнейшую прогрессию в динамике роста опухоли. Синхронно с этими двумя показателями регистрировали увеличение содержания триглицеридов в сыворотке крови.

Поскольку дефицит железа [6] у нормальных животных может существенным образом влиять на активность Ср в сыворотке крови, мы сопоставили динамику содержания Ср с содержанием этого микроэлемента в крови и печени. Повышение Ср начиналось на неделю раньше, чем развивалось снижение концентрации железа в крови и печени, это свидетельствует о том, что дефицит этого металла не мог служить причиной повышения содержания Ср на раннем этапе (14 суток). Прием сульфата цинка нормализовал сниженное содержание негемового железа в крови и, как показано было ранее, также и в печени на 21-е сутки роста гепатомы 22а [45], что никак не повлияло на концентрацию Ср в циркуляции. Полученные результаты указывают на отсутствие прямой связи между концентрацией железа и содержанием Ср в сыворотке крови у животных с опухолями, что согласуется с данными других авторов. Так, было показано, что повышение содержания Ср при росте опухолей печени у мышей может происходить на фоне нормальной концентрации железа в сыворотке крови [46, 47].

Однако развитие гепатомегалии на 28-е, 35-е сутки [45], сопровождающееся дальнейшим снижением содержания железа в печени, можно рассматривать как возможную причину поддержания повышенного синтеза Ср в печени вследствие развития гипоксии и активации HIF-1 α сигнального пути. Активация последнего происходит при дефиците железа, который определяет стабилизацию HIF-1 α .

Следовательно, дефицит железа не мог быть причиной повышения концентрации Ср в крови на раннем этапе опухолевого роста, однако, возможно, имел отношение к поддержанию синтеза Ср в печени на более поздних сроках исследования.

Кроме того, были проведены эксперименты, приводившие к подъему сниженной концентрации цинка в крови животных с гепатомой 22а при помощи дополнительного приема сульфата цинка. Мы предположили, что это может повлиять на содержание Ср в сыворотке крови, чего, однако, не произошло. Даже трехкратное увеличение концентрации принимаемого сульфата цинка по сравнению с физиологической дозой не привело к существенным изменениям показателя Ср. Для сравнения: в работе Labbe с соавт. приводятся данные о влиянии повышающихся концентраций цинка в диете животных на активность Ср в образцах сыворотки крови. Было показано, что, начиная с концентрации соли цинка, в 4 раза превышающей его стандартное содержание, у крыс наблюдается снижение активности Ср [9]. В другой работе было показано, что у крыс, также содержащихся на диете с повышенным содержанием цинка, снижение активности Ср было следствием развития дефицита меди в организме, а внутрибрюшинное введение сульфата меди восстанавливало активность сывороточного Ср [38].

Можно предположить, что мы не наблюдали снижения содержания Ср вследствие недостаточной концентрации принимаемого сульфата цинка. Возможно, поэтому, как показано нами ранее, сульфат цинка в этих концентрациях не тормозил роста самой опухоли гепатомы 22а [39]. Однако следует учесть и тот факт, что авторы вышеприведенных работ изучали влияние цинка в организме нормальных неопухолевых животных, что существенно отличается от наших исследований. Кроме того, у мышей и крыс имеются видоспецифические различия, касающиеся как содержания Ср в циркуляции, так и его участия в транспорте меди [48]. Для оценки эффективности применения сульфата цинка в больших дозировках у мышей с опухолями необходимы дополнительные исследования.

При выяснении возможной связи подъема Ср с содержанием провоспалительных цитокинов у мышей с гепатомой 22а (без приема сульфата цинка) оказалось, что рост опухоли сопровождался существенным возрастанием концентрации IL-6 в сыворотке крови. Из данных литературы известно, что этот цитокин вызывает активацию синтеза Ср в печени [14] и способствует снижению содержания железа [15] и цинка [16].

Гипертриглицеридемия также может быть следствием повышенного уровня IL-6, который усиливает секрецию триглицеридов в печени и стимулирует в ней синтез жирных кислот и холестерина [19, 20]. IL-6 стимулирует липолиз в жировой ткани, в результате чего триглицериды жировой ткани гидролизуются на свободные жирные кислоты и глицерин [19]. При этом часть свободных жирных кислот будет поступать в печень и реэстерифицироваться обратно в триглицериды, продукция которых увеличится [49].

Поскольку изменения концентрации IL-6 в сыворотке крови мышей с гепатомой 22а были самыми ранними, можно предположить, что именно этот цитокин являлся триггером всех последующих изменений: повышения концентрации Ср и триглицеридов, а также развития гипохромии и гипохромии.

При этом следует отметить, что динамические профили Ср и IL-6 при росте гепатомы 22а не совпадают: уровень Ср выходит на плато, а концентрация IL-6 достигает максимума на 21-е сутки и затем снижается. Можно предположить, что на поздних сроках роста опухоли повышенный синтез Ср поддерживается за счет активации других провоспалительных цитокинов (например, IL-1 β), развития гипоксии и дефицита железа в печени или участия еще неидентифицированных гуморальных факторов, связанных с некрозами, тромбозами и другими проявлениями аномального роста солидных опухолей.

По данным литературы, метаболические изменения, вызванные цитокином IL-6, включая повышение его собственного уровня, неблагоприятно сказываются на течении процесса у онкологических больных. Так, подъем IL-6 в крови коррелирует с плохим прогнозом, агрессивным течением [50], снижением выживаемости и резистентностью к проводимой химио- и рентгенотерапии [51]. IL-6 не только оказывает

негативное влияние на обменные процессы, но также может являться непосредственно ростовым фактором для опухолей и активатором неоангиогенеза [35]. Связанные с воспалительной реакцией дефициты железа [26] и цинка [27, 52] у больных раком могут оказывать неблагоприятное влияние на проводимую терапию и выживаемость. Показано, что дефицит этих двух жизненно важных микроэлементов может приводить к нарушениям иммунной защиты и снижению способности организма сопротивляться инфекциям [17, 53].

Гипертриглицеридемия и гиперхолестеринемия также являются неблагоприятными прогностическими факторами у онкологических больных [54–56]. Триглицериды, как и холестерин, необходимы для размножения раковых клеток и аккумулируются в опухолевой ткани [57]. Повышение концентрации свободных жирных кислот в плазме крови может оказывать протуморогенный эффект, поскольку они являются источником энергии для пролиферирующих клеток в результате β -окисления [58].

Известно, что Ср является одним из основных транспортных белков, доставляющих медь в различные органы и ткани, в том числе и в жировую ткань [59], а повышенное содержание меди в жировой ткани способствует процессу липолиза [56]. Исходя из этого, можно предположить, что Ср принимает непосредственное участие в поддержании процесса липолиза в жировой ткани и связанного с ним обеспечения опухолей необходимыми для их роста липидными метаболитами.

Полученные результаты и данные литературы позволяют сформулировать следующую гипотезу. Циркулирующий Ср является важным патогенетическим фактором при росте гепатомы 22a и участвует в метаболическом перепрограммировании организма, вызванном ее ростом. Ср обеспечивает метаболические запросы растущего новообразования по крайней мере двумя путями – прямо, доставляя медь непосредственно в опухоль, и косвенно – активируя процесс липолиза в жировой ткани (рис. 5). Синтез Ср индуцируется в печени под влиянием IL-6 в ответ на появление центральных некрозов в опухоли. IL-6 активирует процесс липолиза в жировой ткани и способствует развитию гиперлипидемии. IL-6 также вызывает развитие гипоферремии и гипоцинкемии, которые, однако, не имеют существенного влияния на Ср. Его протуморогенная роль при росте гепатомы 22a связана не столько с его участием в обмене железа и проявлением ферроксидазной активности, сколько с его способностью транспортировать медь в ткани. Доставляя этот микроэлемент в жировую ткань, циркулирующий Ср совместно с IL-6 участвует в поддержании процесса липолиза.

Из литературы известно, что Ср играет важную роль в обеспечении медью также и опухолевых клеток [5, 60]. Этот микроэлемент является критическим лимитирующим нутриентом для опухолевой прогрессии. Раковые клетки требуют повышенного уровня меди, чтобы покрыть свои энергетические потребности для быстрого роста и метастазирования. Кроме того, медь играет ключевую роль в стимуляции опухолевого неоангиогенеза на различных уровнях, включая синтез многих ангиогенных факторов и их взаимодействие с эндотелиальными клетками [60]. Концентрация меди в крови увеличена при росте многих опухолей, и в некоторых случаях ее повышение может являться неблагоприятным прогностическим признаком [61, 62].

На этом основании для лечения опухолей разрабатываются различные стратегии по созданию медикаментозного дефицита меди в организме. Проводятся экспериментальные и клинические исследования по применению различных хелаторов меди, таких как тетраиомолибдат, пеницилламин и триентин [60, 63]. Имеются положительные результаты по применению в качестве антагониста меди наночастиц серебра у мышей с карциномой Эрлиха [64].

Во всех этих исследованиях для подбора доз хелаторов и длительности проводимой терапии в качестве суррогатного маркера уровня содержания меди в организме используют Ср крови. Его синтез и ферментативная активность очень чувствительны к изменениям содержания меди в организме: повышение резервов меди в печени

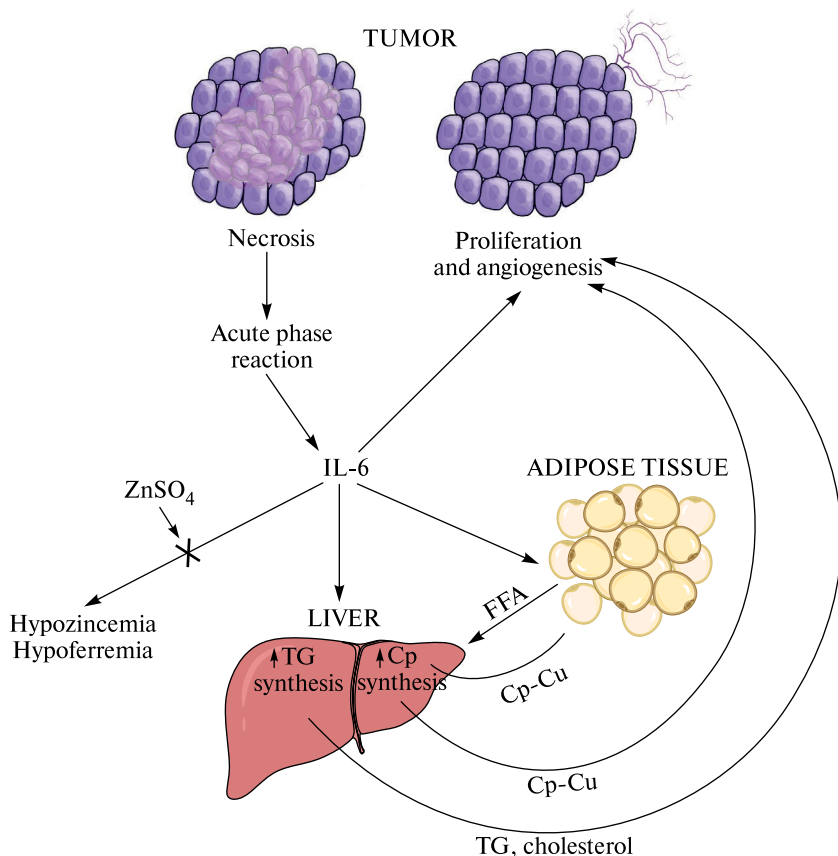


Рис. 5. Гипотетическая схема системных метаболических изменений при росте гепатомы 22a у мышей. Циркулирующий Ср является важным патогенетическим фактором опухолевого роста и вносит существенный вклад в обеспечение метаболических запросов растущей опухоли. Ср участвует в этом напрямую – путем доставки в опухоль меди и косвенно – через мобилизацию липидов. Появление центральных некрозов в опухоли стимулирует синтез провоспалительного цитокина IL-6, который инициирует синтез Ср в печени, развитие гипозинкемии и гипоферремии, а также усиливает пролиферацию и ангиогенез в самой опухоли. Кроме того, IL-6 стимулирует липолиз в жировой ткани, синтез жирных кислот и холестерина в печени, секрецию триглицеридов. Ср транспортирует медь в жировую ткань, способствуя липолизу. Гиперлипидемия оказывает протуморогенный эффект, поскольку холестерин и жирные кислоты являются важными метаболитами, обеспечивающими опухолевый рост. Ср доставляет в опухоль медь, которая необходима для пролиферации и новообразования сосудов. Обозначения: Ср – церулоплазмин, TG – триглицериды, FFA – свободные жирные кислоты, ↑ – повышение.

приводит к увеличению концентрации Ср, а дефицит меди вызывает сначала снижение его ферментативной активности, а затем и синтеза [65]. Поэтому считается, что снижение содержания Ср в циркуляции служит биологическим маркером системного дефицита меди и хорошо отражает степень биодоступности меди для опухоли [60]. Учитывая, что в нашем исследовании измерялась концентрация ферментативно активного Ср (окисление пара-фенилендиамина зависит от связывания Ср с медью), можно с осторожностью предположить, что увеличение концентрации активного Ср при росте гепатомы 22a будет способствовать доставке меди в опухоль.

Для снижения содержания меди при росте опухолей можно также использовать и препараты цинка [63], причем они, в отличие от хелаторов, не обладают токсичностью

и имеют минимальные побочные эффекты [66]. Прием солей цинка уже более 30 лет используется в разных странах в качестве антимицетного агента для лечения болезни Вильсона – Коновалова, характеризующейся избыточным содержанием меди в организме [66]. Механизм действия цинка хорошо известен и заключается в активации металлотионеинов, которые блокируют всасывание меди, поступающей из пищи, в кишечном эпителии и тем самым снижают содержание свободной, не связанной с Cu , меди в крови и способствуют уменьшению запасов меди в органах.

Было показано, что внутрибрюшинное введение сульфата цинка крысам с канцероген-индуцированными опухолями молочных желез нормализует повышенную концентрацию меди в крови. При этом в организме животных достигается еще целый ряд положительных эффектов, таких как устранение гипоцинкемии и гипоферремии, уменьшение синтеза IL-6 и показателей окислительного стресса [37], что делает этот способ лечения весьма перспективным в качестве дополнения к основной противоопухолевой терапии.

Кроме того, важной особенностью солей цинка является их способность влиять на состояние гипоксии в опухолях, которое характерно для быстрорастущих солидных неоплазм и обуславливает их резистентность к проводимой химио- и рентгенотерапии. Было показано, что пероральное применение хлорида цинка у мышей с глиобластомой вызывает подавление HIF-1 α и ангиогенеза в опухолевой ткани [67]. Поскольку и сам Cu также может выступать в роли активатора HIF-1 α и HIF-2 α в нормальных [68] и опухолевых тканях [44, 69], можно предположить, что применение солей цинка будет проявлять антагонистический эффект по отношению к Cu и нивелировать его негативное влияние на опухолевый рост. Дальнейшие исследования помогут выявить новые особенности действия солей цинка и их применения в качестве дополнительных противоопухолевых препаратов для нормализации метаболических нарушений, способствующих опухолевому росту.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы приносят благодарность Д.Н. Магазенковой и доктору биологических наук, профессору Л.В. Пучковой за методические рекомендации и помощь в определении цинка.

ВКЛАДЫ АВТОРОВ

Идея работы и планирование эксперимента (Е. П. К.), сбор данных (Е. А. З., А. С. Т., Н. П. Г.), обработка данных (Е. А. З., К. В. Р.), написание и редактирование рукописи (Е. П. К., А. В. С., Е. А. З.).

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена в рамках государственного задания Института экспериментальной медицины № FGWG-2025-0004 (рег. № 1022041101001-1).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Эксперименты с животными проводились в соответствии с требованиями и условиями, изложенными в “Международных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных”, и приказом Минздрава РФ № 267 от 19.06.03 “Об утверждении правил лабораторной практики”, а также были одобрены Комиссией по этике Института экспериментальной медицины, протокол № 1/21 от 28.01.2021 г.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Zhang Y, Chen Z, Chen JG, Chen XF, Gu DH, Liu ZM, Gao YD, Zheng B (2021) Ceruloplasmin overexpression is associated with oncogenic pathways and poorer survival rates in clear-cell renal cell carcinoma. *FEBS Open Bio* 11(11): 2988–3004.
<https://doi.org/10.1002/2211-5463.13283>
2. Matsuoka R, Shiba-Ishii A, Nakano N, Togayachi A, Sakashita S, Sato Y, Minami Y, Noguchi M (2018) Heterotopic production of ceruloplasmin by lung adenocarcinoma is significantly correlated with prognosis. *Lung Cancer* 118: 97–104.
<https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2018.01.012>
3. Bonaccorsi di Patti MC, Cutone A, Polticelli F, Rosa L, Lepanto MS, Valenti P, Musci G (2018) The ferroportin-ceruloplasmin system and the mammalian iron homeostasis machine: regulatory pathways and the role of lactoferrin. *Biometals* 31(3): 399–414.
<https://doi.org/10.1007/s10534-018-0087-5>
4. Вавилова ТП, Гусарова ЮН, Королева ОВ, Медведев АЕ (2005) Роль церулоплазмينا при развитии неопластических процессов. *Биомед химия* 51(3): 263–275 [Vavilova TP, Goussarova YuN, Koroleva OV, Medvedev AE (2005) The role of ceruloplasmin in neoplastic processes. *Biomed Khimiya* 51(3): 263–275. (In Russ)].
5. Campbell CH, Brown R, Linder MC (1981) Circulating ceruloplasmin is an important source of copper for normal and malignant animal cells. *Biochim Biophys Acta* 678(1): 27–38.
[https://doi.org/10.1016/0304-4165\(81\)90044-1](https://doi.org/10.1016/0304-4165(81)90044-1)
6. Ranganathan PN, Lu Y, Jiang L, Kim C, Collins JF (2011) Serum ceruloplasmin protein expression and activity increases in iron-deficient rats and is further enhanced by higher dietary copper intake. *Blood* 118(11): 3146–3153.
<https://doi.org/10.1182/blood-2011-05-352112>
7. Bjørklund G, Aaseth J, Skalny AV, Suliburska J, Skalnaya MG, Nikonorov AA, Tinkov AA (2017) Interactions of iron with manganese, zinc, chromium, and selenium as related to prophylaxis and treatment of iron deficiency. *J Trace Elem Med Biol* 41: 41–53.
<https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2017.02.005>
8. Malavolta M, Piacenza F, Basso A, Giacconi R, Costarelli L, Mocchegiani E (2015) Serum copper to zinc ratio: Relationship with aging and health status. *Mech Ageing Dev* 151: 93–100.
<https://doi.org/10.1016/j.mad.2015.01.004>
9. L'Abbe MR, Fischer PWF (1984) The Effects of Dietary Zinc on the Activity of Copper-Requiring Metalloenzymes in the Rat. *J Nutr* 114(5): 823–828.
<https://doi.org/10.1093/jn/114.5.823>
10. Broun ER, Greist A, Tricot C, Hoffman R (1990) Excessive zinc ingestion. A reversible cause of sideroblastic anemia and bone marrow depression. *JAMA* 264(11): 1441–1443.
<https://doi.org/10.1001/jama.264.11.1441>
11. Cox DH, Chu RC, Schlicker SA (1969) Zinc deficiency in the maternal rat during gestation, and zinc, iron, copper, and calcium content and enzyme activity in maternal and fetal tissues. *J Nutr* 98(4): 449–458.
<https://doi.org/10.1093/jn/98.4.449>
12. Samygina VR, Sokolov AV, Bourenkov G, Schneider TR, Anashkin VA, Kozlov SO, Kolmakov NN, Vasilyev VB (2017) Rat ceruloplasmin: a new labile copper binding site and zinc/copper mosaic. *Metallomics* 9(12): 1828–1838.
<https://doi.org/10.1039/c7mt00157f>
13. Sakajiri T, Nakatsuji M, Teraoka Y, Furuta K, Ikuta K, Shibusa K, Sugano E, Tomita H, Inui T, Yamamura T (2021) Zinc mediates the interaction between ceruloplasmin and apo-transferrin for the efficient transfer of Fe(III) ions. *Metallomics* 13(12): mfab065.
<https://doi.org/10.1093/mtomcs/mfab065>
14. Sintusek P, Kyrana E, Dhawan A (2019) Chapter 11—Diagnosis of Hepatic Wilson Disease, in: *Wilson Disease* Weiss RH, Schilsky M (eds) Acad Press. 125–138.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811077-5.00011-6>
15. Ganz T, Nemeth E (2024) Hypoferremia of inflammation: Innate host defense against infections. *Blood Cells Mol Dis* 104: 102777.
<https://doi.org/10.1016/j.bcmd.2023.102777>

16. Foster M, Samman S (2012) Zinc and regulation of inflammatory cytokines: implications for cardiometabolic disease. *Nutrients* 4(7): 676–694.
<https://doi.org/10.3390/nu4070676>
17. Haase H, Rink L (2014) Zinc signals and immune function. *Biofactors* 40(1): 27–40.
<https://doi.org/10.1002/biof.1114>
18. Das SK, Hoefler G (2013) The role of triglyceride lipases in cancer associated cachexia. *Trends Mol Med* 19 (5): 292–301.
<https://doi.org/10.1016/j.molmed.2013.02.006>
19. Nonogaki K, Fuller GM, Fuentes NL, Moser AH, Staprans I, Grunfeld C, Feingold KR (1995) Interleukin-6 stimulates hepatic triglyceride secretion in rats. *Endocrinology* 136(5): 2143–2149.
<https://doi.org/10.1210/endo.136.5.7720663>
20. Chen Y, Yu C-Y, Deng W-M (2019) The role of pro-inflammatory cytokines in lipid metabolism of metabolic diseases. *Int Rev Immunol* 38(6): 249–266.
<https://doi.org/10.1080/08830185.2019.1645138>
21. Raia S, Conti A, Zanardi A, Ferrini B, Scotti GM, Gilberti E, De Palma G, David S, Alessio M (2023) Ceruloplasmin-deficient mice show dysregulation of lipid metabolism in liver and adipose tissue reduced by a protein replacement. *Int J Mol Sci* 24: 1150.
<https://doi.org/10.3390/ijms24021150>
22. Kim CH, Park JY, Kim JY, Choi CS, Kim YI, Chung YE, Lee MS, Hong SK, Lee KU (2002) Elevated serum ceruloplasmin levels in subjects with metabolic syndrome: a population-based study. *Metabolism* 51(7): 838–842.
<https://doi.org/10.1053/meta.2002.33348>
23. Schmidt-Arras D, Rose-John S (2016) IL-6 pathway in the liver: From physiopathology to therapy. *J Hepatol* 64(6): 1403–1415.
<https://doi.org/10.1016/j.jhep.2016.02.004>
24. Kwee JK (2014) A paradoxical chemoresistance and tumor suppressive role of antioxidant in solid cancer cells: a strange case of Dr. Jekyll and Mr. Hyde. *Biomed Res Int* 2014: 209845.
<https://doi.org/10.1155/2014/209845>
25. Robinson TP, Hamidi T, Counts B, Guttridge DC, Ostrowski MC, Zimmers TA, Koniaris LG (2023) The impact of inflammation and acute phase activation in cancer cachexia. *Front Immunol* 14: 1207746.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1207746>
26. Aksan A, Farrag K, Aksan S, Schroeder O, Stein J (2021) Flipside of the coin: iron deficiency and colorectal cancer. *Front Immunol* 12: 635899.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.635899>
27. Gelbard A (2022) Zinc in cancer therapy revisited. *Isr Med Assoc J* 24(4): 258–262.
28. Cunzhi H, Jiexian J, Xianwen Z, Jingang G, Shumin Z, Lili D (2003) Serum and tissue levels of six trace elements and copper/zinc ratio in patients with cervical cancer and uterine myoma. *Biol Trace Elem Res* 94(2): 113–122.
<https://doi.org/10.1385/BTER:94:2:113>
29. Idriss ME, Modawe GA, Shrif NE (2015) Assessment of serum zinc and iron among Sudanese women with breast cancer in Khartoum State. *Int J Appl Sci Res Rev* 2(2): 074–078.
30. Weibel ER, Kistler GS, Scherle WF (1966) Practical stereological methods for morphometric cytology. *J Cell Biol* 30(1): 23–38.
31. Rebouche CJ, Wilcox CL, Widness JA (2004) Microanalysis of non-heme iron in animal tissues. *J Biochem Biophys Methods* 58(3): 239–251.
<https://doi.org/10.1016/j.jbbm.2003.11.003>
32. Varfolomeeva EY, Semenova EV, Sokolov AV, Aplin KD, Timofeeva KE, Vasilyev VB, Filatov MV (2016) Ceruloplasmin decreases respiratory burst reaction during pregnancy. *Free Radic Res* 50(8): 909–919.
<https://doi.org/10.1080/10715762.2016.1197395>
33. Sokolov AV, Kostevich VA, Romanico DN, Zakharova ET, Vasilyev VB (2012) Two-stage method for purification of ceruloplasmin based on its interaction with neomycin. *Biochemistry (Moscow)* 77(6): 631–638.
<https://doi.org/10.1134/S0006297912060107>

34. Kisseleva EP, Krylov AV, Stepanova OI, Lioudyno VI (2011) Transplantable subcutaneous hepatoma 22a affects functional activity of resident tissue macrophages in periphery. *Int J Cell Biol* 2011: 793034.
<https://doi.org/10.1155/2011/793034>
35. Mohamed AH, Ahmed AT, Al Abdulmonem W, Bokov DO, Shafie A, Al-Hetty HRAK, Hsu CY, Alissa M, Nazir S, Jamali MC, Mudhafar M (2024) Interleukin-6 serves as a critical factor in various cancer progression and therapy. *Med Oncol* 41(7): 182.
<https://doi.org/10.1007/s12032-024-02422-5>
36. Metzger S, Hassin T, Barash V, Pappo O, Chajek-Shaul T (2001) Reduced body fat and increased hepatic lipid synthesis in mice bearing interleukin-6-secreting tumor. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 281(5): E957–E965.
<https://doi.org/10.1152/ajpendo.2001.281.5.E957>
37. Gulbahce-Mutlu E, Baltaci SB, Menevse E, Mogulkoc R, Baltaci AK (2021) The effect of zinc and melatonin administration on lipid peroxidation, IL-6 Levels, and element metabolism in DMBAinduced breast cancer in rats. *Biol Trace Elem Res* 199(3): 1044–1051.
<https://doi.org/10.1007/s12011-020-02238-0>
38. Lee D Jr, Matrone G (1969) Iron and copper effects on serum ceruloplasmin activity of rats with zinc-induced copper deficiency. *Proc Soc Exp Biol Med* 130(4): 1190–1194.
<https://doi.org/10.3181/00379727-130-33751>
39. Зеленский ЕА, Рутто КВ, Соколов АВ, Киселева ЕП (2021) Прием цинка тормозит развитие инволюции тимуса при опухолевом росте у мышей. *Вопр онкол* 67(3): 436–441. [Zelenskiy EA, Rutto KV, Sokolov AV, Kisseleva EP (2021) Zinc supplementation prevents the development of thymic involution induced by tumor growth in mice. *Vopr onkol* 67(3): 436–441. (In Russ)].
<https://doi.org/10.37469/0507-3758-2021-67-3-436-441>
40. Mocchegiani E, Santarelli L, Muzzioli M, Fabris N (1995) Reversibility of the thymus involution and of age-related peripheral immune dysfunction by zinc supplementation in old mice. *Int J Immunopharmacol* 17(9): 703–718.
[https://doi.org/10.1016/0192-0561\(95\)00059-b](https://doi.org/10.1016/0192-0561(95)00059-b)
41. Sattar N, Scott HR, McMillan DC, Talwar D, O'Reilly DS, Fell GS (1997) Acute-phase reactants and plasma trace element concentrations in non-small cell lung cancer patients and controls. *Nutr Cancer* 28(3): 308–312.
<https://doi.org/10.1080/01635589709514592>
42. Lukanović D, Polajžer S, Matjašič M, Kobal B, Černe K (2024) Analysis of ATP7A expression and ceruloplasmin levels as biomarkers in patients undergoing neoadjuvant chemotherapy for advanced high-grade serous ovarian carcinoma. *Int J Mol Sci* 25(18): 10195.
<https://doi.org/10.3390/ijms251810195>
43. Onizuka K, Migita S, Yamada H, Matsumoto I (1999) Serum protein fractions in patients with laryngeal cancer undergoing radiation therapy. Possibility as a prognostic factor. *Fukuoka Igaku Zasshi (Japanese)* 90(2): 46–58.
44. Tsai YM, Wu KL, Chang YY, Chang WA, Huang YC, Jian SF, Tsai PH, Lin YS, Chong IW, Hung JY, Hsu YL (2020) Loss of miR-145-5p causes ceruloplasmin interference with PHD-iron axis and HIF-2α stabilization in lung adenocarcinoma-mediated angiogenesis. *Int J Mol Sci* 21(14): 5081.
<https://doi.org/10.3390/ijms21145081>
45. Zelenskiy EA, Rutto KV, Trulioff AS, Magazenkova DN, Sokolov AV, Kisseleva EP (2024) Impaired tissue content of iron and zinc in mice with growing hepatoma 22A and its correction with zinc sulfate supplementation. *Russ Physiol J* 110(7): 1128–1146 (In Russ).
<https://doi.org/10.31857/S0869813924070057>
46. Younes RN, Vydelingum NA, Noguchi Y, Brennan MF (1990) Lipid kinetic alterations in tumor-bearing rats: Reversal by tumor excision. *J Surg Res* 48(4): 324–328.
[https://doi.org/10.1016/0022-4804\(90\)90067-C](https://doi.org/10.1016/0022-4804(90)90067-C)
47. Deng T, Lyon CJ, Bergin S, Caligiuri MA, Hsueh WA (2016) Obesity, inflammation, and cancer. *Annu Rev Pathol* 11: 421–449.
<https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-012615-044359>
48. Johnson DE, O'Keefe RA, Grandis JR (2018) Targeting the IL-6/JAK/STAT3 signalling axis in cancer. *Nat Rev Clin Oncol* 15(4): 234–248.
<https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2018.8>

49. Hoang BX, Han B, Shaw DG, Nimni M (2016) Zinc as a possible preventive and therapeutic agent in pancreatic, prostate, and breast cancer. *Eur J Cancer Prevent* 25(5): 457–461.
<https://doi.org/10.1097/CEJ.0000000000000194>
50. Zohora F, Bidad K, Pourpak Z, Moin M (2018) Biological and immunological aspects of iron deficiency anemia in cancer development: a narrative review. *Nutr Cancer* 70(4): 546–556.
<https://doi.org/10.1080/01635581.2018.1460685>
51. Khine L, Benmoussa J, Thorp JRA, Chandrasekaran N, Forlenza T, Bloomfield D (2016) Hypertriglyceridemia: An Open Door for Cancer Treatment? *J Endocrinol Metab* 6(2): 33–34.
<https://doi.org/10.14740/jem342w>
52. Loftsrød T, Mortensen ES, Nahwoga H, Wilsgaard T, Frydenberg H, Risberg T, Eggen AE, McTiernan A, Aziz S, Wist EA, Stensvold A, Reitan JB, Akslen LA, Thune I (2018) Impact of pre-diagnostic triglycerides and HDL-cholesterol on breast cancer recurrence and survival by breast cancer subtypes. *BMC Cancer* 18(1): 654.
<https://doi.org/10.1186/s12885-018-4568-2>
53. Chen XQ, Wu PW, Liu DH, Yan SJ, Shen XM, Yang LY (2020) Prognostic significance of high triglyceride and apolipoprotein B levels in patients with stage III and high-risk stage II colorectal cancer undergoing curative surgery. *Oncol Lett* 20(1): 705–714.
<https://doi.org/10.3892/ol.2020.11617>
54. Haberl EM, Pohl R, Rein-Fischboeck L, Höring M, Krautbauer S, Liebisch G, Buechler C (2021) Accumulation of cholesterol, triglycerides and ceramides in hepatocellular carcinomas of diethylnitrosamine injected mice. *Lipids Health Dis* 20(1): 135.
<https://doi.org/10.1186/s12944-021-01567-w>
55. Saavedra-García P, Nichols K, Mahmud Z, Fan LY, Lam EW (2018) Unravelling the role of fatty acid metabolism in cancer through the FOXO3-FOXM1 axis. *Mol Cell Endocrinol* 462(Pt B): 82–92.
<https://doi.org/10.1016/j.mce.2017.01.012>
56. Fu Y, Yang J, Chen J, Li Y (2024) The role and molecular mechanisms of copper in regulating animal lipid metabolism. *J Anim Feed Sci* 33(4): 401–415.
<https://doi.org/10.22358/jafs/188788/2024>
57. Pousset D, Piller V, Bureaud N, Piller F (2001) High levels of ceruloplasmin in the serum of transgenic mice developing hepatocellular carcinoma. *Eur J Biochem* 268(5): 1491–1499.
<https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.2001.02015.x>
58. Youn P, Kim S, Ahn JH, Kim Y, Park JD, Ryu DY (2009) Regulation of iron metabolism-related genes in diethylnitrosamine-induced mouse liver tumors. *Toxicol Lett* 184(3): 151–158.
<https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2008.11.002>
59. Linder MC (2016) Ceruloplasmin and other copper binding components of blood plasma and their functions: an update. *Metallomics* 8(9): 887–905.
<https://doi.org/10.1039/c6mt00103c>
60. Tang X, Yan Z, Miao Y, Ha W, Li Z, Yang L, Mi D (2023) Copper in cancer: from limiting nutrient to therapeutic target. *Front Oncol* 13: 1209156.
<https://doi.org/10.3389/fonc.2023.1209156>
61. Lener MR, Wiechowska-Kozłowska A, Scott RJ, Muszynska M, Kladny J, Waloszczyk P, Rutkowska A, Sukiennicki G, Gromowski T, Jaworska-Bieniek K, van de Wetering T, Kaczmarek K, Jakubowska A, Lubinski J (2015) Serum concentrations of Cu, Se, Fe and Zn in patients diagnosed with pancreatic cancer. *Heredit Cancer Clin Pract* 13(Suppl 1): A14.
62. Fang AP, Chen PY, Wang XY, Liu ZY, Zhang DM, Luo Y, Liao GC, Long JA, Zhong RH, Zhou ZG, Xu YJ, Xu XJ, Ling WH, Chen MS, Zhang YJ, Zhu HL (2019) Serum copper and zinc levels at diagnosis and hepatocellular carcinoma survival in the Guangdong Liver Cancer Cohort. *Int J Cancer* 144(11): 2823–2832.
<https://doi.org/10.1002/ijc.31991>
63. Brewer GJ, Merajver SD (2002) Cancer therapy with tetrathiomolybdate: antiangiogenesis by lowering body copper – a review. *Integr Cancer Ther* 1(4): 327–337.
<https://doi.org/10.1177/1534735402238185>
64. Magazenkova DN, Skomorokhova EA, Farroukh MA, Zharkova MS, Jassem ZM, Rekina VE, Shamova OV, Puchkova LV, Ilyechova EY (2023) Influence of silver nanoparticles on the growth of ascitic and solid Ehrlich adenocarcinoma: focus on copper metabolism. *Pharmaceutics* 15: 1099.
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15041099>

65. Liu Z, Wang M, Zhang C, Zhou S, Ji G (2022) Molecular functions of ceruloplasmin in metabolic disease pathology. *Diabetes Metab Syndr Obes* 15: 695–711.
<https://doi.org/10.2147/DMSO.S346648>
66. Avan A, Czlonkowska A, Gaskin S, Granzotto A, Sensi SL, Hoogenraad TU (2022) The role of zinc in the treatment of Wilson's disease. *Int J Mol Sci* 23: 9316.
<https://doi.org/10.3390/ijms23169316>
67. Nardinocchi L, Pantisano V, Puca R, Porru M, Aiello A, Grasselli A, Leonetti C, Safran M, Rechavi G, Givol D, Farsetti A, D'Orazi G (2010) Zinc downregulates HIF-1 α and inhibits its activity in tumor cells in vitro and in vivo. *PLoS One* 5(12): e15048.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0015048>
68. Kostevich VA, Sokolov AV, Kozlov SO, Vlasenko AY, Kolmakov NN, Zakharova ET, Vasilyev VB (2016) Functional link between ferroxidase activity of ceruloplasmin and protective effect of apo-lactoferrin: studying rats kept on a silver chloride diet. *Biometals* 29(4): 691–704.
<https://doi.org/10.1007/s10534-016-9944-2>
69. Dai L, Cui X, Zhang X, Cheng L, Liu Y, Yang Y, Fan P, Wang Q, Lin Y, Zhang J, Li C, Mao Y, Wang Q, Su X, Zhang S, Peng Y, Yang H, Hu X, Yang J, Huang M, Xiang R, Yu D, Zhou Z, Wei Y, Deng H (2016) SARI inhibits angiogenesis and tumour growth of human colon cancer through directly targeting ceruloplasmin. *Nat Commun* 7: 11996.
<https://doi.org/10.1038/ncomms11996>. Retraction in: *Nat Commun* (2023) 14(1): 4377.
<https://doi.org/10.1038/s41467-023-40067-6>

Metabolic Alterations in Mice Bearing Hepatoma 22a: Focus on Ceruloplasmin

E. A. Zelenskiy^a, K. V. Rutto^b, A. S. Trulioff^a, N. P. Gorbunov^c, A. V. Sokolov^d,
and E. P. Kisseleva^{a,*}

^a*Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia*

^b*St. Petersburg State Technological Institute (Technical University), Saint Petersburg, Russia*

^c*Saint Petersburg Pasteur Institute, Saint Petersburg, Russia*

^d*Smorodintsev Research Institute of Influenza, Saint Petersburg, Russia*

*e-mail: ekissele@yandex.ru

Ceruloplasmin (Cp), plays a key role in metabolism of two vital trace elements – iron and copper, whose metabolic pathways are closely related to each other as well as to zinc uptake. Increased concentration of Cp usually follows tumor growth, but its role in tumor progression is not clear. The aim of the study was to compare the changes of Cp concentration in blood serum with iron and zinc content as well as with concentrations of proinflammatory cytokines and lipids in the dynamics of tumor growth. Additionally, Cp concentration was studied in mice supplemented with zinc sulphate in drinking water. The study was performed in C3HA mice, which were subcutaneously inoculated with hepatoma 22a cells. Serum Cp increased from 14th day after tumor inoculation simultaneously with the appearance of central necrosis in the tumor and elevation of serum triglycerides. The growth of blood IL-6 concentration began from 7th day and could possibly trigger the acute phase reaction expressed in increase in Cp synthesis and the development of hypoferrremia, hypozincemia and hypertriglyceridemia. The content of non-heme iron in blood and liver decreased later than Cp up-regulation. This indicates that iron deficiency was not the cause of Cp increase on 14th day, but could support it at later stages of tumor growth. Zinc sulphate supplementation returned non-heme iron content and partly returned zinc concentration in the blood of mice on 21st day, but did not influence the concentration of Cp. It is discussed that the possible protumoral role of Cp is related not as much to iron metabolism as to its ability to transport copper to tissues. We hypothesize that serum Cp is an important pathogenetic factor that participates in supplementation of tumors with necessary lipid metabolites since Cp, together with IL-6, can possibly support lipolysis in adipose tissue, delivering copper ions there.

Keywords: ceruloplasmin, hepatoma 22a, IL-6, hypoferrremia, triglycerides, tumor necrosis, zinc sulphate